UTILISATION DE SUCRES ET DE POLYOLS PAR LA MYCOFLORE D'*ABIES ALBA* MILL.

3. CHAMPIGNONS DU SOL (fin)[1]

par F. GOURBIERE*

RÉSUMÉ. – Utilisation de 25 sucres et polyols par 11 champignons isolés de la litière d'*Abies alba* Mill. et appartenant aux genres *Trichoderma*, *Calcarisporium*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Chaunopycnis*, *Acremonium* et *Beauveria*. Les problèmes biochimiques, génétiques, taxonomiques et écologiques liés à l'utilisation du saccharose, du mélibiose et du raffinose sont discutés en détail.

SUMMARY. – Utilization of 25 sugars and polyols by 11 fungi isolated from *Abies alba* Mill. litter and belonging to the genera *Trichoderma*, *Calcarisporium*, *Paecilomyces*, *Verticillium*, *Chaunopycnis*, *Acremonium* and *Beauveria*. The biochemical, genetical, taxonomical and ecological conditions of utilization of sucrose, melibiose and raffinose are discussed.

Nous poursuivons l'étude de l'utilisation des sucres et polyols par les champignons présents sur les aiguilles de Sapin (GOURBIERE 1981 a, 1982 a). Dans cette troisième partie nous achevons l'examen du groupe des champignons du sol, caractéristique de la litière ancienne (groupe successionnel V, GOURBIERE 1982 b). Leur distribution est donnée dans le tableau 1. Ce sont tous des hôtes fréquents des litières et des sols forestiers en climat tempéré et leur intérêt dépasse donc le cas particulier de la litière étudiée.

1. Ce travail a été réalisé dans le cadre de l'ERA CNRS n° 848 «Ecologie microbienne».

* Laboratoire d'Écologie Végétale, Université Lyon I, 43 Bd du 11 Novembre 1918, F. 69622 Villeurbanne Cedex France.

I. – MATÉRIEL ET MÉTHODE

A. - MATÉRIEL

Les souches testées proviennent donc de la litière d'aiguilles de Sapin et ont été isolées sur PDA à pH 5,7 pour les deux *Trichoderma* (GOURBIERE 1979) et à pH 8,3 pour les autres espèces (GOURBIERE 1981 b). Toutes les identifications ont été effectuées ou vérifiées par le CentraalBureau voor Schimmelcultures (Baarn). Les numéros de souches sont ceux de notre mycothèque.

Tab. 1. – Pourcentages d'aiguilles colonisées par chaque espèce en fonction du stade de décomposition (V : aiguilles vivantes, Lo : sénescentes, L, F1, F2 : stades successifs de la litière au sol).

Stades de décomposition	V	Lo	L	F1	F2
Trichoderma viride	0	0	1,1	14,0	18,8
Trichoderma polysporum	0	0	8,1	15,3	14,2
Calcarisporium arbuscula	0	0	1,5	3,5	7,5
Paecilomyces farinosus	1,5	10,0	27,0	50,0	33,0
Verticillium bulbillosum	0	1,0	2,0	8,5	25,0
Verticillium sp. A111	0	0	0	0	2,0
Chaunopycnis alba	0,5	4,0	18,0	28,0	43,0
Acremonium butyri	0,5	1,5	2,0	3,5	1,5
Acremonium sp. A 104	0	0	9,0	7,5	0,5
Beauveria brongniartii	0	0,5	5,5	4,5	9,5
Beauveria bassiana	0	0	6,5	6,5	4,5

Trichoderma viride Pers. ex S. F. Gray (A3)
Trichoderma polysporum (Link ex Fr.) Rifai (A4)
Calcarisporium arbuscula Preuss (A83)
Paecilomyces farinosus (Holm ex S.F. Gray) Brown & Smith (A89)
Verticillium bulbillosum W. Gams & Malla (A90)
Verticillium sp. (A111)
Chaunopycnis alba W. Gams (A91)
Acremonium butyri (van Beyma) W. Gams (A97)
Acremonium sp. (A104)
Beauveria brongniartii (Sacc.) Petch (A93)
Beauveria bassiana (Bals.) Vuill. (A105).

B. - MÉTHODE (cf. GOURBIERE 1981 a)

Les poids secs indiqués dans les tableaux 2 et 3 représentent la croissance à partir de 200 mg de substrat (sucre ou polyol) et de 10 mg de yeast-extract dans 20 ml de milieu minéral à pH 5,1. La quantité de substrat est ajustée pour chaque composé de façon à apporter 4 g de carbone par litre. Chaque valeur est la moyenne de trois répétitions. La précision des mesures (2 écarts-types) est de l'ordre de 5 mg.

C. - INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS

1. Croissance sur glucose (Tab. 2).

Tab. 2. – Croissance sur glucose. Poids sec en mg pour 210 mg de substrat. a : rapport poids sec à 14 jours / poids sec maximum; b : rapport poids sec maximum / poids de substrat apporté.

Jours de culture	7	14	21	28	35	a	b
Trichoderma viride	37	43	30	19	18	1,00	0,20
Trichoderma polysporum	32	46	55	49	45	0,84	0,26
Calcarisporium arbuscula	54	58	32	28	26	1,00	0,28
Paecilomyces farinosus	30	63	75	72	76	0,84	0,36
Verticillium bulbillosum	43	62	51	31	31	1,00	0,30
Verticillium sp. A111	75	91	89	85	82	1,00	0,43
Chaunopycnis alba	50	70	76	72	74	0,92	0,36
Acremonium butyri	49	82	80	79	78	1,00	0,39
Acremonium sp. A104	35	55	59	63	64	0,86	0,30
Beauveria brongniartii	32	48	52	47	43	0,92	0,25
Beauveria bassiana	36	56	55	49	43	1,00	0,27

Le rapport : poids sec maximum / poids de matière organique fournie (210 mg) est compris entre 0,20 et 0,43, du même ordre de grandeur que pour les champignons étudiés précédemment.

Signalons que quatre espèces (mineures) du même groupe, isolées à pH 8,3, ne se sont pas développées sur le milieu utilisé. Ce sont :
Acremonium implicatum (Gilman & Abbott) W. Gams
Acremonium cf. *persicinum* (Nicot) W. Gams
Verticillium tenerum (Nees ex Pers.) Link
Acremonium strictum W. Gams

2. Temps de culture

Nous avons choisi une incubation de 14 jours. Le rapport : poids sec à 14 jours / poids sec maximal est toujours supérieur à 0,80.

3. Signification des résultats.

Nous avons retenu les critères suivants :
0 - 9 mg : substrat non utilisé (19 cas).
10 - 19 mg : valeurs litigieuses (25 cas) qui nécessiteraient de nouveaux essais.
On peut cependant considérer que
10 - 12 mg : substrat probablement non utilisé
13 - 19 mg : substrat probablement utilisé
20 mg et plus : substrat utilisé (231 cas).

II. – RÉSULTATS (Tab. 3)

Tab. 3. – Croissance sur différents sucres et polyols à 14 jours pour 210 mg de substrat apporté. (glucitol = sorbitol; ribitol = adonitol; galactitol = dulcitol).

	Trichoderma viride	Trichoderma polysporum	Calcarisporium arbuscula	Paecilomyces farinosus	Verticillium bulbillosum	Verticillium sp. A111	Chaunopycnis alba	Acremonium butyri	Acremonium sp A104	Beauveria brongniartii	Beauveria bassiana
témoin	4	5	2	3	4	5	4	[illegible]	4	3	3
MONOSACCHARIDES											
glucose	64	39	51	64	79	97	76	82	56	48	59
fructose	74	48	57	50	75	97	80	84	58	38	49
mannose	68	56	53	57	72	97	88	80	62	46	62
galactose	80	47	57	64	67	124	81	79	59	42	57
L-sorbose	14	20	18	44	55	50	19	69	5	4	5
L-rhamnose	15	17	40	13	68	52	7	10	9	[illegible]	6
xylose	65	49	43	57	63	94	4	79	37	28	62
L-arabinose	70	28	55	51	79	95	21	78	52	18	41
D-arabinose	12	15	34	[illegible]	48	37	17	11	11	9	10
ribose	73	47	47	54	73	84	79	76	61	39	54
DISACCHARIDES											
maltose	11	15	40	53	73	95	64	82	31	45	58
tréhalose	83	42	59	61	43	82	69	87	56	45	41
lactose	62	18	29	28	57	26	26	31	10	13	27
cellobiose	[illegible]	43	37	48	78	97	64	80	36	28	25
saccharose	78	5	54	69	79	92	63	82	7	49	62
mélibiose	47	33	31	54	79	85	[illegible]	79	4	2	19
TRISACCHARIDES											
raffinose	61	22	45	62	89	78	27	87	6	21	27
mélézitose	10	7	69	75	83	102	29	76	4	43	17
POLYOLS											
glycérol	88	48	61	64	88	102	66	83	49	57	72
érythritol	63	41	59	40	88	78	23	77	19	45	66
ribitol	6	29	47	66	88	79	63	82	49	46	65
glucitol	61	31	59	54	87	76	69	83	44	31	46
mannitol	66	48	59	70	51	90	45	86	42	82	65
galactitol	60	38	59	53	93	71	10	85	21	35	54
inositol	38	34	36	36	73	36	42	26	24	17	49

Les deux *Verticillium* et *Calcarisporium* utilisent tous les substrats testés. Les autres espèces présentent de une *(Paecilomyces)* à huit *(Acremonium* sp. 104) déficiences.

Certains substrats sont utilisés par toutes les espèces :
– hexoses : fructose, glucose, mannose, galactose.
– pentoses : L-arabinose, ribose.
– disaccharides : tréhalose, cellobiose.
– polyols : glycérol, erythritol, glucitol, mannitol, inositol.

Deux groupes de substrats présentent la majorité des déficiences :
– L-sorbose (3), L-rhamnose (5), D-arabinose (6)
– saccharose (2), raffinose (1), mélibiose (3), mélezitose (3).

Les autres déficiences sont dispersées sur cinq substrats (xylose, maltose, lactose, ribitol et galactitol) chacun étant utilisé par 10 espèces sur 11.

Les résultats obtenus pour *Trichoderma viride* et *T. polysporum* sont en bon accord avec ceux publiés pour ces espèces par DANIELSON et DAVEY (1973), sauf en ce qui concerne l'inositol qui est utilisé par nos deux souches alors qu'aucun des *Trichoderma* testé par ces auteurs n'utilisait ce polyol.

III. – DISCUSSION

Au terme de ces trois publications nous connaissons les capacités d'utilisation de 25 sucres et polyols par 33 espèces appartenant au même groupe écologique spatio-temporel, soit 825 données élémentaires.

Le but était à l'origine de reconnaître si ce groupe était homogène ou non vis-à-vis de l'utilisation de ces composés. De toute évidence il ne l'est pas.

Il convient d'analyser ces résultats à différents niveaux, en particulier biochimique, génétique, taxonomique et écologique.

Nous n'envisagerons ici, à titre d'exemple, que les données relatives à l'utilisation du saccharose, du mélibiose et du raffinose.

A. - NIVEAU BIOCHIMIQUE

Nous suivons la méthode d'analyse proposée par BARNETT (1968, 1976) pour les levures.

Le raffinose est un trisaccharide qui peut être hydrolysé de deux manières :
- raffinose = saccharose + galactose (αgalactosidase)
- raffinose = mélibiose + fructose (βfructosidase).

Les disaccharides obtenus peuvent à leur tour être hydrolysés par les mêmes enzymes, le saccharose pouvant en outre être attaqué par une αglucosidase non active sur le raffinose.
- saccharose = fructose + glucose (βfructosidase ou α glucosidase)
- mélibiose = glucose + galactose (αgalactosidase).

L'utilisation du raffinose nécessite donc deux enzymes, si l'un d'eux est absent un tiers seulement du substrat est utilisé.

Le tableau 4 montre les différentes combinaisons possibles et la répartition des 33 espèces testées.

Tab. 4. – Relations entre l'utilisation du saccharose, du mélibiose et du raffinose. Nombre d'espèces par cas possible. Les cases vides correspondent aux combinaisons biochimiquement impossibles.

saccharose		+	+	–	–
mélibiose		+	–	+	–
	+	18			
raffinose	1/3		3	1	
	–		0		11

La majorité des champignons appartient aux deux cas extrêmes :
: saccharose +, mélibiose +, raffinose + (18 espèces)
: saccharose –, mélibiose –, raffinose – (11 espèces)

aucune n'appartient aux cas «interdits» :
: saccharose +, mélibiose +, raffinose – ou 1/3
: saccharose –, mélibiose –, raffinose + ou 1/3.

Les cas d'utilisation partielle du raffinose sont peu nombreux :
: saccharose +, mélibiose –, raffinose 1/3 (3 espèces)
: saccharose –, mélibiose +, raffinose 1/3 (1 espèce)

Le cas : saccharose +, mélibiose –, raffinose –, correspondant à l'hydrolyse du saccharose par une glucosidase, n'est pas représenté.

L'utilisation du saccharose et (ou) du mélibiose entraîne donc l'utilisation totale (ou partielle) du raffinose pour les raisons biochimiques et enzymologiques exposées.

B. - NIVEAU GÉNÉTIQUE

On constate que, bien qu'à priori indépendantes, l'αgalactosidase et la β fructosidase apparaissent en fait liées, les espèces ne possédant que l'une d'entre elles étant minoritaires.

Pour expliquer cet état de fait on peut envisager :

soit que les deux enzymes sont liées génétiquement. BARNETT (1976) explique ainsi certaines associations d'enzymes n'ayant aucune base biochimique.

– soit que leurs substrats étant régulièrement associés dans la nature, la sélection a porté simultanément sur les deux enzymes.

C. - NIVEAU TAXONOMIQUE

Les deux enzymes ne sont pas distribués de façon homogène au plan taxonomique. Deux cas sont particulièrement significatifs.

– sur 10 *Penicillium* testés, 9 sont saccharose +, mélibiose +, raffinose +. La seule exception (*P.* cf. *raistrickii*), saccharose +, mélibiose –, raffinose 1/3, peut être considérée comme une déficience secondaire.

– sur 12 Mucorales testées, 10 sont saccharose –, mélibiose –, raffinose . Seules les deux variétés de *Mortierella* (sub. gen. *Micromucor*) sont saccharose +, mélibiose +, raffinose +.

De ces trois niveaux d'analyse nous pouvons conclure :

que l'utilisation du raffinose dépend de celle d'un au moins de ses constituants diosidiques,

qu'en général une espèce utilise soit les deux, soit aucun de ces constituants,

– qu'au moins dans certains cas, ce caractère est d'ordre supra- spécifique.

D. - NIVEAU ÉCOLOGIQUE

Il ne peut être abordé qu'à partir d'une hypothèse sur les ressources nutritionnelles utilisées *in natura* par ces champignons.

Les aiguilles F 2, où ces champignons atteignent leur développement maximum, ne se décomposent pratiquement plus (GOURBIERE 1981 c) et sont très pauvres en sucres solubles. Par ailleurs ce groupe de champignons semble limité à la surface des aiguilles (GOURBIERE, à paraître).

Parmi les modes de vie possibles pour cette microflore, l'un d'eux fait directement intervenir les sucres étudiés. Dans cette hypothèse l'aiguille n'est qu'un support inerte où les champignons se développent aux dépens des pluviolessivats. Ceux-ci, comme les aiguilles vivantes dont ils proviennent, contiennent un mélange de glucose, fructose, saccharose et raffinose.

Si l'on ne considère, pour simplifier, que les espèces les plus importantes (colonisant plus de 10 % des aiguilles) et si l'on admet leur coexistence spatio-temporelle, toutes utilisent le fructose, le glucose et le galactose, et sont donc en compétition pour les monosaccharides constitutifs.

Saccharose et raffinose autorisent par contre une différenciation du groupe :

– Un premier groupe d'espèces (*Penicillium* cf. *frequentans*, *P.* sp. 17, *Mortierella ramanniana*, *Paecilomyces farinosus*, *Verticillium bulbillosum*, *Trichoderma viride*), utilisent ces deux sucres et sont donc en compétition.

– Un deuxième groupe, constitué par le sub. gen. *Mortierella* (*M. parvispora*, *M. pulchella*, *M. hyalina*), ne les utilisant pas, serait éliminé en cas de compétition. Elles peuvent cependant précéder le premier groupe (en utilisant fructose et glucose) sans gêner son développement ultérieur (à partir du saccharose et du raffinose), dans le cadre de successions à court terme.

– Notons que les deux espèces n'utilisant qu'un seul des diosides, *Chauno-*

pycnis alba (saccharose +, mélibiose –) et *Trichoderma polysporum* (saccharose –, mélibiose +) sont les seules à pouvoir coexister par partage des ressources nutritionnelles au sens strict, dans les limites du cas envisagé évidemment.

IV. – CONCLUSION

Le modèle écologique présenté est très hypothétique. Il a essentiellement l'avantage de montrer comment des différences nutritionnelles pourraient participer à la structuration d'une microflore. Il montre aussi que la description spatio-temporelle doit être affinée si l'on veut y intégrer les dimensions «nutritionnelles» des niches écologiques.

Nous remercions Mme Colette MOULIN pour sa collaboration technique.

BIBLIOGRAPHIE

BARNETT J.A., 1968 - Biochemical differentiation of taxa with special reference to yeasts. *In* «The Fungi. An advanced treatise», G.C. AINSWORTH and A.S. SUSSMAN eds, Academic Press, New-York, Vol. III, pp. 557-595.

BARNETT J.A., 1976 - The utilization of sugars by yeasts. *Advan. Carbohydrate Chem. Biochem.* 32 : 125-234.

DANIELSON R.M. and DAVEY C.B., 1973 - Carbon and nitrogen nutrition of *Trichoderma*. *Soil Biol. Biochem.* 5 : 505-515.

GOURBIERE F., 1979 – Les champignons microscopiques liés aux aiguilles de Sapin (*Abies alba* Mill.). 4. Microflore de la litière. *Bull. Soc. mycol. Fr.* 95 : 23-33.

GOURBIERE F., 1981 a – Utilisation de sucres et de polyols par la mycoflore d'*Abies alba* Mill. 1. Mucorales. *Cryptog. mycol.* 2 : 3-11.

GOURBIERE F., 1981 b – Champignons des aiguilles de Sapin (*Abies alba* Mill.). 7. Microflores basophiles. *Bull. Soc. mycol. Fr.* 97 : 81-89.

GOURBIERE F., 1981 c – Vie, sénescence et décomposition des aiguilles de Sapin (*Abies alba* Mill.). Méthodologie et premiers résultats. *Acta Oecologica, Oecol. Plant.* 2 : 223-232.

GOURBIERE F., 1982 a – Utilisation de sucres et de polyols par la mycoflore d'*Abies alba* Mill. 2. *Penicillium*. *Cryptog. mycol.* 3 : 33-39.

GOURBIERE F., 1982 b – Champignons des aiguilles de Sapin (*Abies alba* Mill.). 8. Observation directe des microflores. *Bull. Soc. mycol. Fr.* 98 : 129-138.